

Aus der Frauenklinik
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster
Geschäftsführender Direktor Prof. Dr. F.K.Beller

DER ENDOTOXININDUZIerte SCHOCK
BEI DER WEIBLICHEN RATTE

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Fachbereiche

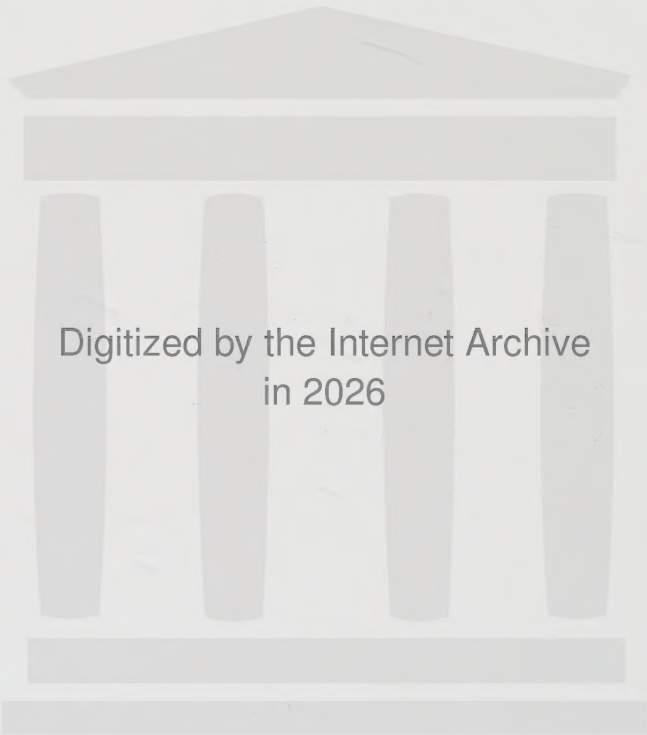
5 Vorklinische und theoretische Medizin und
6 Klinische Medizin

der medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

Hans-Joachim Bührig
aus Goslar

1982



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Frauenklinik
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster
Geschäftsführender Direktor Prof. Dr. F.K.Beller

DER ENDOTOXININDUZIERTE SCHOCK
BEI DER WEIBLICHEN RATTE

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Fachbereiche

5 Vorklinische und theoretische Medizin und
6 Klinische Medizin

der medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

Hans-Joachim Bührig
aus Goslar

1982



Gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der WWU

Dekan: Prof. Dr. H.J. Kühle

1. Berichterstatter Priv. Doz. Dr. Schmidt
2. Berichterstatter: Prof. Dr. F.K. Beller

Tag der Promotion: 27.5. 1982

Aus der Frauenklinik der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Referent: Priv. Doz. Dr. Schmidt

Korreferent: Prof. Dr. F.K. Beller

DER ENDOTOXININDUZIERTE SCHOCK BEI DER WEIBLICHEN RATTE

Hans-Joachim Büurig

Weibliche Ratten erhielten eine Injektion von 1 mg Endotoxin und eine Infusion von 0,9 % NaCl-Lösung über einen Zeitraum von vier Stunden. Der zeitliche Ablauf des Endotoxin-induzierten Schocks wurde über 64 Stunden untersucht. Jeweils achtzehn Ratten (zwölf Endotoxintiere und sechs Kontrolltiere) bildeten eine von neun Versuchsgruppen. Den Tieren jeder Gruppe wurde zu einem festgelegten Zeitpunkt Blut entnommen, die Tiere wurden getötet und autopsiert. Die Tiere der ersten Gruppe wurden eine Viertelstunde nach Endotoxingabe, die letzten nach 64 Stunden untersucht.

Anhand der Reaktionen der zellulären Blutbestandteile, des Hämatokrits, des Plasmahaemoglobins, des Fibrinogens sowie am Ausmaß der Mikrothrombosierung der Nierenglomerula, der Körpergewichtsdifferenzen vor und nach dem Versuch und dem klinischen Verhalten der Versuchstiere, ließen sich drei Phasen im zeitlichen Ablauf des Endotoxinschocks ableiten.

In der Frühphase wurden drastische Veränderungen in der Zusammensetzung der zellulären Blutbestandteile beobachtet.

Nach vier Stunden wiesen die Tiere die stärkste Schocksymptomatik auf: 90 % der Nierenglomerula waren mit Fibrinthromben besetzt. Der Plasmafibrinogenwert betrug 1,5 % der Kontrolltiere, der Plasmahaemoglobinspiegel war um 95 % angestiegen. Die Plättchenzahl betrug 44 % - die Leukozytenzahl 30 % der Kontrolltiere.

Die folgenden Versuchsstunden waren durch eine zunehmende Auflösung der intravasalen Fiebrinniederschläge bei den überlebenden Tieren charakterisiert. Trotz der Verbesserung der Laborparameter verschlechterte sich der klinische Zustand der Tiere kontinuierlich; nur fünf von zwölf Versuchstieren überlebten die 64 Versuchsstunden.

Tag der Promotion: 27. 5.1982

INHALT

	Seite
I. Einleitung	1
II. Material und Methode	3
a) Tiermaterial	3
b) Endotoxin	3
c) Versuchsaufbau	3
d) Versuchsdurchführung	6
e) Untersuchungsparameter	6
III. Ergebnisse	9
a) klinisches Verhalten	9
b) haematologische Parameter	10
c) morphologisch-histologische Befunde	16
IV. Diskussion	19
V. Zusammenfassung	29
VI. Literatur	31
VII. Lebenslauf	37
VIII. Tabellenanhang	38

1. Einleitung

Schock ist das Mißverhältnis zwischen zirkulierendem Blutvolumen und Gefäßkapazität (15). Im wesentlichen werden drei Schockformen unterschieden:

der hypovolämische Schock, traumatisch oder cardiogen verursacht; der neurogene Schock und der durch Infektion verursachte septische Schock. Der septische Schock wird auch als Endotoxinschock bezeichnet. Der Begriff "Endotoxinschock" entstammt der experimentellen Medizin. Analogien zum klinischen Verlauf eines septischen Geschehens machen es wahrscheinlich, das Endotoxine gramnegativer Bakterien auch für den menschlichen bakteriellen Schock ursächlich eine Rolle spielen.

Das klassische tierexperimentelle Modell für den endotoxämisch verursachten Schock ist das Sarelli-Schwartzman-Phänomen: die zweimalige intravenöse Injektion von Endotoxin beim Kaninchen im Abstand von 24 Stunden (1).

Dieses Modell wurde im Verlauf der letzten 50 Jahre in mannigfacher Weise modifiziert. Eine entscheidende Befruchtung hat die Diskussion um die pathophysiologische Relevanz der Endotoxinämie für die Pathogenese des septischen Schocks durch ein von Beller und Graeff (1967) entwickeltes tierexperimentielles Modell gefunden, das die zweimalige Injektion von Endotoxin durch eine kontinuierliche Infusion von Endotoxin ersetzt (2,3).

Bei der Ratte lassen sich mit diesem Infusionsmodell nach vier Stunden Versuchszeit alle Zeichen einer ausgeprägten generalisierten Schwartzman Reaktion nachweisen. (31).

In der vorliegenden Arbeit wurde das pathophy-

logische Geschehen nach Gabe von Endotoxin in seinem zeitlichen Ablauf über 64 Stunden erfaßt und anhand hämatologischer und morphologischer Parameter dokumentiert.

II. Material und Methode

a) Tiermaterial

Als Versuchstiere dienten 180 - 230 g schwere, weibliche "SPF" - Sprague-Dawley-Ratten (Züchter: Asta-Werke, Brackwede).

Die Tiere wurden 8 - 15 Tage vor Versuchsbeginn in der tierexperimentellen Abteilung der Universitätskliniken Münster untergebracht.

Sie wurden in Käfigen zu je 10 Stück gehalten.

Die Nahrung bestand aus Altromin H-Diät und Wasser ad libitum.

b) Endotoxin

Für alle Versuche wurde als Endotoxin ein Trockenextrakt aus dem gramnegativen Bakterium *Escherichia coli* verwandt. (*E.coli* 026; B 6 Lipopolysaccharide der Difco-Laboratories Detroit, Michigan, USA).

Unmittelbar vor Versuchsbeginn wurde das Endotoxin in steriler und pyrogenfreier Kochsalzlösung gelöst.

Die Versuchstiere erhielten 1mg Endotoxin in die Schwanzvene injiziert und je nach Versuchsgruppe eine bestimmte Menge Kochsalz (0,9 % NaCl, Fresenius, Bad Homburg) über einen festgelegten Zeitraum infundiert.

c) Versuchsaufbau

Die Tiere wurden je nach Tötungszeitpunkt in neun Gruppen eingeteilt (Abb.a) Jede Gruppe bestand aus 18 Ratten. Davon erhielten 12 Tiere Endotoxin, jeweils 6 Kontrolltiere blieben bei sonst identischen Versuchsbedingungen ohne Endotoxin.

Die Tiere wurden nach einer Zufallszahlenreihe aus Käfigen zu je 10 Stück ausgewählt und auf diese Weise der "Kontroll"- bzw. "Endotoxingruppe" zugeordnet.

Nach Versuchsablauf wurde den Tieren in Äthernarkose Blut abgenommen. Sie wurden getötet und autopsiert.

1 mg Endotoxin

†	2ml	5ml	11 ml	22ml	45ml	45ml	45ml	45ml	45ml	NaCl	
0	1/4	1/2	1	2	4	1/2	8	16	32	64	h
	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	Tötungszeitpunkt
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX		

Abb. a Versuchsablauf

Tab. 1 Einteilung der Versuchsgruppen

Gruppe	Tieranzahl	Endotoxin (mg)	Inf.menge (ml)	Inf.dauer (Std.)	Versuchs- dauer (Std.)	Anzahl der vor Versuchsende verstorbenen
Tiere						
I	12	1,0	2	1/4	1/4	-
	6	-	2	1/4	1/4	-
II	12	1,0	5	1/2	1/2	-
	6	-	5	1/2	1/2	-
III	12	1,0	11	1	1	-
	6	-	11	1	1	-
IV	12	1,0	22	2	2	-
	6	-	22	2	2	-
V	12	1,0	45	4 1/2	4 1/2	-
	6	-	45	4 1/2	4 1/2	-
VI	12	1,0	45	4 1/2	8	-
	6	-	45	4 1/2	8	-
VII	12	1,0	45	4 1/2	16	-
	6	-	45	4 1/2	16	-
VIII	12	1,0	45	4 1/2	32	1
	6	-	45	4 1/2	32	-
IX	12	1,0	45	4 1/2	64	7
	6	-	45	4 1/2	64	-

d) Versuchsdurchführung

Infusionstechnik: Die Schwanzvene wurde nach Erwärmung des Schwanzes unter kurzdauernder, leichter Äthernarkose (Äther puriss. pro narcosi, Farbwerke Hoechst AG) mit einer bis zur Hälfte aufgefalten Injektionsnadel punktiert. Über diese Nadel wurde ein dünner PVC Katheter (C. R. Bard. Inc. Murray Hill, N. J.) etwa 6 - 8 cm weit vorgeschoben. Der Katheter wurde mit Leukoplast am Schwanz befestigt.

Zum Schutz des Katheters wurden zwei durchsichtige Plastikröhren über den Rattenschwanz geführt. Der Katheter wurde über ein Kugelgelenk mit einer Infusionspumpe (Perfusor, Braun, Melsungen) verbunden.

Während der Infusion saßen die Tiere in geräumigen Zylindergläsern (Durchmesser 16 cm), in denen sie sich verhältnismäßig frei bewegen konnten.

Blutentnahme und Aufbereitung: Zum festgelegten Zeitpunkt wurde unter leichter Äthernarkose der Bauchraum eröffnet, die Aorta abdominalis präpariert und in Höhe der Bifurcatio mit einer sterilen Einmalkanüle (B. Braun, Melsungen AG. Nr.2, 0,80 x 3,8 mm) punktiert.

2 ml Citratblut (9 Teile Blut, 1 Teil Natriumcitrat) wurden sofort 10 min lang bei 3000 Upm zentrifugiert und das überstehende erythrozytenfreie Citratplasma abpipettiert.

2 ml Vollblut wurden in ein EDTA beschichtetes Röhrchen (Sarstedt) gegeben.

e) Untersuchungsparameter

Fibrinogen: Das Plasma-Fibrinogen wurde nach der von Clauss beschriebenen Methode mit Fibrinogen Reagenz zur quantitativen Fibrinogenbestim-

mung (Boehringer Mannheim GmbH, Biochemica) am Koagulometer von Schnitker und Groß bestimmt (11). Bei im Überschuß vorhandenem Thrombin ist die Gerinnungszeit nur von dem Plasmafibrinogenspiegel abhängig.

Durch eine Eichkurve läßt sich eine exakte Aussage über das Verhältnis Gerinnungszeit zur Fibrinogenkonzentration im Plasma erstellen.

Plasmahaemoglobin: 0,5 ml Citratplasma wurden 4,5 ml Drabkinscher Lösung zugesetzt. Nach der Methode von Betke und Savelsberg wurde es als Cyanmethhaemoglobin im Eppendorf Photometer bei Hg 546 nm bestimmt (7).

Haematrokit: Mit heparinisierten Präzisions-Kapillar-Röhrchen, die an einem Ende mit Spezialwachs versiegelt waren, wurde Blut direkt aus der Aorta entnommen. Diese Kapillaren wurden anschließend fünf min lang bei 12500 Upm zentrifugiert.

Der Haematokrit konnte anschließend in den Röhrchen an einer Spezialskala des Gerätes abgelesen werden.

Thrombozyten: Mit einem Spezialkapillarröhrchen wurde Blut aus der Aorta angesaugt und mit 1 % Ammoniumoxalatlösung verdünnt. (Unopettes, Becton-Dickinson, Rutherford, N.J.).

Nach erfolgter Haemolyse wurde eine Zählkammer "Thomae neu" mit dem Verdünnungsgemisch beschickt und etwa 30 min in einer feuchten Kammer belassen. Dadurch sollte eine Dehydrierung vermieden und gleichzeitig eine Sedimentation der Plättchen erreicht werden. Unter dem Phasenkontrastmikroskop wurden fünf große Quadrate, die 16 kleine beinhalten, ausgezählt. Durch Multiplikation mit dem Faktor 5000 wurde die Plättchenzahl pro mm^3 ermittelt.

Haemoglobin, Leukozyten: Durch Zugabe von Potassiumcyanid (Rapid Lys, Merz u. Dacke) wurden die Erythrozyten hämolysiert und das freigesetzte Hämoglobin in Hämoglobincyanid umgewandelt. Die Leukozyten bleiben unversehrt und können mit einem Teilchenzählgerät elektronisch gezählt werden (Coulter-Counter ZBI, Bedford Scheyer). Aus der gleichen Lösung wird photometrisch das Hämoglobin bestimmt (Coulter, Hämoglobinometer).

Erythrozyten: Die Zählung erfolgt in 1:10 isotonomischer Plasmaverdünnung elektronisch an oben genannten Zählgeräten.

Gewichte: Das Gewicht der Tiere wurde vor und nach der Infusion bestimmt. Nach der Autopsie wurden die einzelnen Organe (Leber, Lunge, Herz, Milz, Thymus, Nieren und Nebennieren) entnommen und gewogen.

Morphologisch-histologische Untersuchung:

Die Nieren wurden nach makroskopischer Beurteilung in flüssigem Stickstoff schockgefroren und am Kryostaten histologisch aufgearbeitet. Ein Schnitt wurde in Höhe des Rindenbereichs gelegt, ein zweiter erfaßte die Markregion. Der Nachweis von Fibrin erfolgte mit der Fibrinfärbung nach Weigert. Unter dem Mikroskop wurden 600 - 800 Glomerula ausgezählt.

Das Verhältnis fibrinbefallener zu freien Glomerula wurde in Prozenten ausgedrückt. Ein Glomerulum wurde als "fibrinbefallen" bezeichnet, wenn mindestens zwei Fibrinstücke nachgewiesen werden konnten.

III. Ergebnisse

a) Klinisches Verhalten der Versuchstiere

Alle Tiere waren bei Versuchsbeginn klinisch unauffällig - das Fell war glatt, die Bewegungen lebhaft, das Gebaren neugierig. - Spätestens 2 1/2 Stunden nach der Endotoxininjektion wurden die Ratten apathisch, das Fell sträubte sich, das Interesse an den Vorgängen in der unmittelbaren Umgebung war weitgehend erloschen. Im Gegensatz dazu zeigten die Kontrolltiere zum gleichen Zeitpunkt ausgeprägte Abwehr- oder Angriffsreaktionen.

Nach Beendigung der Infusion waren die Endotoxintiere weiter geschädigt. Beim Entfernen des Venenkatheters zeigten sie keine Fluchtreflexe oder Abwehrreaktionen. Gesträubtes Fell, Hyperventilation (bebende Flanken), Speichelfluß und ein in Rückenlage gut sicht- und tastbarer Aszites vervollständigten das Bild. Die Versuchstiere waren zu diesem Zeitpunkt anurisch, während die Kontrolltiere infolge der Kochsalzinfusion eine stark vermehrte Harnausscheidung aufwiesen.

Die überlebenden Tiereder Gruppen VI - IX, die nach Infusionsende in den Käfig zurückgesetzt wurden, zeigten kein Interesse für ihre Artgenossen. Nach 32 Std. waren sie deutlich abgemagert, das Fell war struppig und glanzlos. Das Schicksal der einzelnen Tiere ergibt sich aus Tab. 1.

Sieben von zwölf Endotoxintieren überlebten den 64 Std. Zeitraum nicht (Gruppe IX). Bei zwei Tieren wurde beobachtet, wie sie nach einem kurz-dauernden, generalisierten Krampf und anschließender Blutung aus Maul und Nase ad exitum kamen. Die übrigen wurden tot aufgefunden und wiesen ebenfalls Zeichen einer massiven hämorrhagischen Diathese auf.

b) Haematologische Parameter

Leukozyten.

Bereits eine viertel Stunde nach Versuchsbeginn wurde ein erheblicher Abfall der Leukozytenzahl auf $5700 \pm 1080 / \text{mm}^3$ festgestellt (Kontrollen $13200 \pm 1600 / \text{mm}^3$).

Nach zwei Stunden wurde mit 3800 ± 1100 Leukozyten/ mm^3 der tiefste Wert erreicht. In dieser Gruppe trat bei den Kontrolltieren eine Leukozytose von $19600 \pm 4900 / \text{mm}^3$ auf.

Nach acht Stunden stieg die Zahl der weißen Blutkörperchen an; es wurden 7700 ± 2300 Leukozyten/ mm^3 gezählt.

Die weitere Zunahme war unerheblich; nach 64 Stunden betrug der Wert 8500 ± 4300 Leukozyten/ mm^3 .

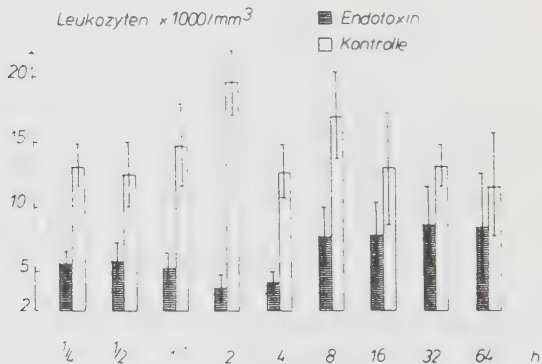


Abb. 1 Verhalten der Leukozytenzahl unter dem Einfluß von Endotoxin über 64 Stunden.

Thrombozyten

Eine viertel Stunde nach Versuchsbeginn setzte eine ausgeprägte Thrombozytopenie ein. Es wurden 716000 ± 118000 Thrombozyten/mm³ gezählt (Kontrollen: 1103000 ± 275000 Thrombozyten/mm³). Mit geringen Schwankungen blieb die Zahl bis zu zwei Stunden nach Versuchsbeginn unverändert. Nach vier Stunden war der Wert hochsignifikant auf 247000 ± 120000 Thrombozyten/mm³ (Kontrollen: 1072000 ± 146000 Thrombozyten/mm³) abgesunken. Bis 32 Stunden nach Versuchsbeginn sanken die Plättchen weiter ab und erreichten mit 69000 ± 28000 /mm³ einen Minimalwert. Bei der Gruppe IX (64 Stunden) wurde mit 222000 ± 72000 /mm³ ein leichter Anstieg beobachtet. Verglichen mit dem Wert der Kontrolltiere (1038000 ± 64000 /mm³) bestand jedoch weiterhin eine erhebliche Thrombozytopenie.

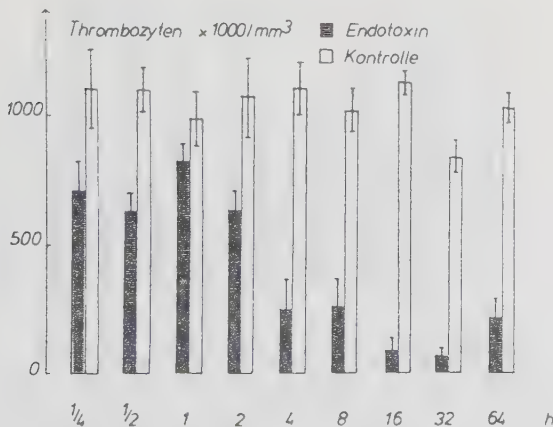


Abb. 2 Verhalten der Thrombozytenzahl unter dem Einfluß von Endotoxin während des 64 std. Versuchs.

Erythrozyten

Bis zu zwei Stunden nach Versuchsbeginn wurden keine wesentlichen Änderungen der Erythrozytenzahl festgestellt. Zu diesem Zeitpunkt wurden 6700000 ± 500000 Erythrozyten/ mm^3 gezählt (Kontrolle: $6500000 \pm 400000/\text{mm}^3$).

Nach vier Stunden trat ein hochsignifikanter Erythrozytenabfall auf $3100000 \pm 600000/\text{mm}^3$ ein (Kontrollen: 6800000 ± 400000 Erythrozyten/ mm^3). Die anschließende ansteigende Tendenz setzte sich bis zur 32 Stunden Gruppe(VII) fort ($5600000 \pm 400000 /\text{mm}^3$).

Nach 64 Stunden betrug die Erythrozytenzahl $4100000 \pm 1700000 /\text{mm}^3$ (Kontrollen: $6900000 \pm 700000 /\text{mm}^3$).

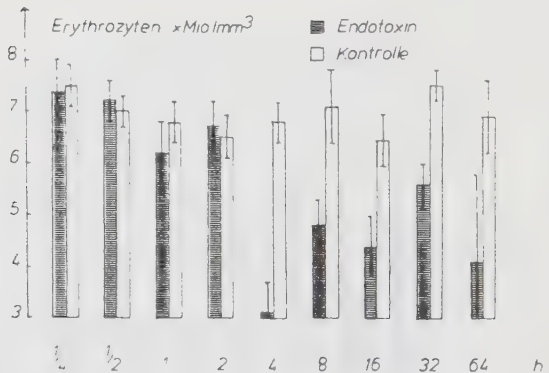


Abb. 3 Verhalten der Erythrozytenzahl unter dem Einfluß von Endotoxin über 64 Stunden.

Haemoglobin

Die Haemoglobinwerte der Endotoxintiere unterschieden sich in den ersten zwei Stunden nicht oder nur unwesentlich von denen der Kontrolltiere (um 13 g %). Nach vier Stunden sank das Haemoglobin signifikant auf $6,3 \pm 0,5$ g % ab (Kontrollen: $13,5 \pm 0,8$ g %) und erreichte damit den tiefsten Wert.

Im weiteren Versuchsablauf stieg der Haemoglobinspiegel wieder an. Nach 32 Stunden wurden $11,7 \pm 0,8$ g % gemessen. Bei Versuchsende betrug der Haemoglobinwert $9,0 \pm 2,5$ g % (Kontrollen: $13,8 \pm 0,8$ g %).

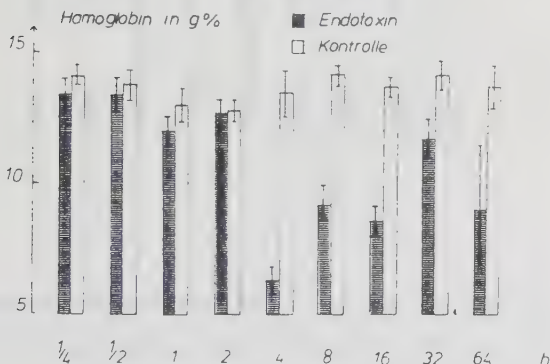


Abb. 4 Änderung des Haemoglobinspiegels unter Endotoxineinwirkung während des 64 stündigen Versuchs.

Plasmahaemoglobin

Der Plasmahaemoglobinspiegel war zwei Stunden nach Versuchsbeginn auf $34,3 \pm 3,9$ mg % angestiegen

(Kontrollen: $17,9 \pm 4,6$ mg %).

Nach vier Stunden war der Wert mit $166,7 \pm 91$ mg % hochsignifikant erhöht (Kontrollen: $17,5 \pm 4,7$ mg %).

Nach 16 Stunden betrug der Wert $86,0 \pm 22$ mg % (Kontrollen: $17,7 \pm 5,4$ mg %). Bei Versuchsende (nach 64 Stunden) wurde mit $21,2 \pm 5,1$ mg % ein Plasmahaemoglobinspiegel erreicht, der mit dem der Kontrollen wieder übereinstimmte.

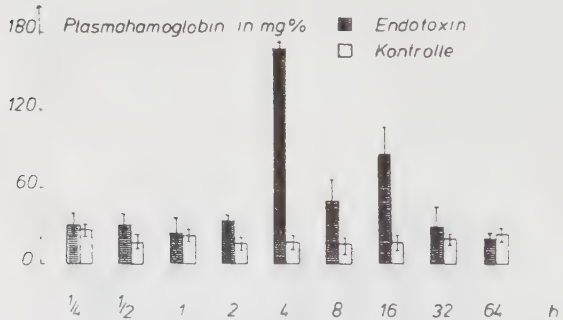


Abb. 5 Verhalten des Plasmahaemoglobinspiegels unter dem Einfluß von Endotoxin über 64 Stunden.

Haematokrit

In den ersten zwei Versuchsstunden fiel der Haematokritwert bis auf 31 ± 3 Vol % (Kontrollen: 36 ± 2 Vol %) ab.

Nach vier Stunden und nach acht Stunden lag er über dem Wert der Kontrollen und erreichte nach 16 Stunden mit 47 ± 4 Vol % ein Maximum (Kontrol-

len: 39 ± 2 Vol %). Nach 32 Stunden lag der Wert bei Kontroll- und Endotoxintieren im gleichen Bereich. Nach 64 Stunden wurde bei den Versuchstieren mit 27 ± 8 Vol % der Minimalwert beobachtet.

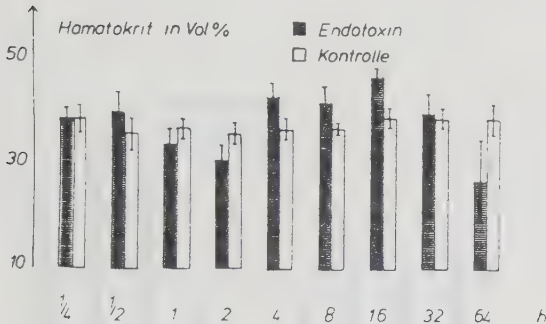


Abb. 6 Verhalten des Haematokrits unter dem Einfluß von Endotoxin während des 64stündigen Versuchs.

Fibrinogen

Der Fibrinogenspiegel sank bei den Endotoxintieren bis vier Stunden nach Versuchsbeginn zunehmend ab, während er bei den Kontrolltieren bis zu diesem Zeitpunkt anstieg. Der niedrigste Wert wurde nach vier Stunden erreicht: 34 ± 28 mg %, (Kontrollen: 222 ± 22 mg %). In dieser Versuchsgruppe war bei drei Tieren kein Fibrinogen im Plasma nachweisbar.

Im weiteren Verlauf wurde ein deutlicher Anstieg erkennbar. Nach 16 Stunden lagen die Fibrinogen-

werte von Kontroll- und Endotoxintieren auf gleicher Höhe (Endotoxintiere: 193 ± 50 mg %, Kontrolltiere: 191 ± 23 mg %). 16 Stunden später wurden 223 ± 23 mg % Fibrinogen bei den Endotoxintieren und 178 ± 16 mg % bei den Kontrolltieren gemessen.

Bei Versuchsende war der Fibrinogenspiegel bei Versuchs- und Kontrolltieren wieder weitgehend gleich (Endotoxintiere: 190 ± 13 mg %, Kontrollen: 181 ± 15 mg %).

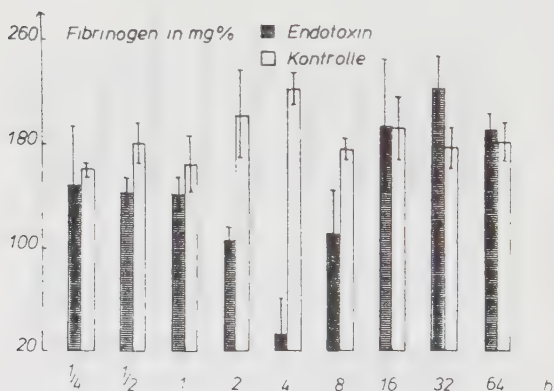


Abb. 7 Änderung der Fibrinogenplasmakonzentration unter Endotoxineinwirkung über 64 Stunden.

c) Morphologisch-histologische Ergebnisse

Fibrinbefallene Glomerula

Die Glomerula der Nieren aller Tiere der neun Kontrollgruppen und der ersten vier Endotoxingruppen (bis zu einer Versuchsdauer von zwei Stunden) waren

frei von Fibrinablagerungen. Nach vier Stunden fanden sich bei den Versuchstieren massive Fibrin-niederschläge ($90 \pm 6,3$ % glomerulärer Fibrinbefall). Mit Zunahme der Versuchsdauer nahm der Fibrinbefall wieder ab. Nach acht Stunden waren $74 \pm 7,6$ %, nach 16 Stunden $36 \pm 5,7$ % und nach 32 Stunden noch $4,5 \pm 3,6$ % der Glomerula befallen. In den Gruppen V, VI, VII (vier, acht und 16 Stunden) war von den jeweils 12 Endotoxintieren nicht eines ohne Fibrinablagerungen in den Glomerula. Bei Versuchsende wiesen die überlebenden Tiere nur $0,4 \pm 0,6$ % fibrinbefallene Glomerula auf. Die in dieser Gruppe vorzeitig gestorbenen Tiere zeigten je nach dem Todeszeitpunkt unterschiedlich hohe Werte (siehe Tabelle VIII) bis maximal 72 %.

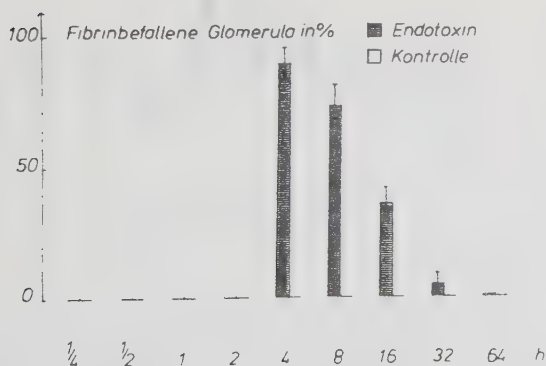


Abb. 8 Prozentualer Anteil der fibrinbefallenen Glomerula der Nieren unter dem Einfluß von Endotoxin während des 64stündigen Versuchs.

Gewichte

Von Versuchsbeginn an nahmen die Versuchstiere stärker an Gewicht zu als die Kontrollen.

Die Gewichtszunahme der Versuchstiere ($14,5 \pm 4,1$ g) war nach zwei Stunden gegenüber den Kontrollen ($2,6 \pm 3,9$ g) signifikant, nach vier Stunden mit $19,5 \pm 6,5$ g zu $1,8 \pm 6,6$ g hochsignifikant.

Nach acht Stunden trat bei allen Endotoxintieren ein Gewichtsverlust gegenüber dem Anfangsgewicht auf, der nach 64 Stunden mit $-14,2 \pm 5,4$ g maximal war. Die Kontrollen dieser Gruppe hatten $8,5 \pm 3,1$ g zugenommen.

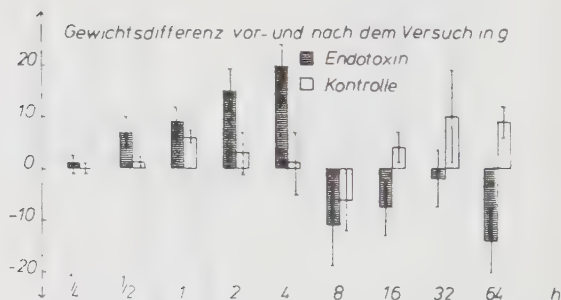


Abb. 9 Verhalten des Körpergewichts der Versuchstiere unter dem Einfluß von Endotoxin über einen 64stündigen Zeitraum.

IV Diskussion

Endotoxine wurden bei den verschiedensten Spezies und in unterschiedlichster Weise appliziert, um experimentell eine, dem septischen Schock des Menschen vergleichbare Symptomatik zu erzeugen (2, 3, 6, 20, 27, 31, 34).

Die vorliegenden Ergebnisse geben erstmals über einen längeren Beobachtungszeitraum einen Einblick in den Ablauf des Schockgeschehens beim Endotoxinschock der Ratte.

Eine der ersten und auffälligsten Folgen der Endotoxinämie war ein rapider Leukozytensturz. Er setzte wenige Minuten nach Versuchsbeginn ein und bestand während der gesamten Zeit der Endotoxininfusion fort. Nach Beendigung der Infusion stieg die Leukozytenzahl rasch wieder an. Der Wert der Kontrolltiere wurde jedoch bis zum Versuchsende nach 64 Stunden nicht erreicht.

Obwohl diese auffällige Veränderung im weißen Blutbild nach Endotoxin schon vor über 50 Jahren beobachtet wurde (26), ist die Bedeutung der Leukozyten im Ablauf des Endotoxinschocks bis heute unklar. Thomas und Good (1952), Lerner (1968), Müller-Berghaus (1975) und andere Autoren wiesen die Notwendigkeit des Vorhandenseins von Granulozyten bei der Entstehung der disseminierten intravasalen Gerinnung nach. Tiere, die nach Vorbehandlung mit Nitrogen-Mustard eine Leukopenie entwickelt hatten, reagierten auf Endotoxine ohne Ausbildung einer Thrombosierung der Mikrostrombahn.

Umgekehrt hatte eine Heparinisierung, die ebenfalls zum Ausbleiben einer generalisierten Schwartzman Reaktion führte, keinen Einfluß auf die endotoxininduzierte Leukopenie. (37, 26, 14).

Nach Cline et al. (1969) sind die Leukozyten Targetzellen für Endotoxine. Ihr Vorhandensein ist nicht nur für endotoxininduzierte Gerinnungsvorgänge essentiell, sondern spielt auch eine wesentliche Rolle für die Gesamtantwort des Organismus auf Endotoxine.

Als Ursache für die endotoxininduzierte Leukopenie wird zum einen die Beteiligung der Leukozyten bei der Mikrothrombenbildung diskutiert: bei der histologischen Aufarbeitung wurden in Thromben neben fibrillären Strukturen Erythrozyten, Thrombozyten und Granulozyten gefunden (22). Nach Horn (1973) leiten die Granulozyten nach Aufnahme des Endotoxins durch Freisetzung gerinnungsaktivierender Substanzen die Präzipitation des Fibrinogens ein (18).

Zum andern wird diskutiert, daß die Leukozyten die großmolekularen Endotoxinaggregate phagozytieren. Bei diesem Vorgang werden sie offensichtlich nicht zerstört. Ihr Verschwinden aus der Blutbahn wird vielmehr so erklärt, daß sie aus der Zirkulation abgesondert und an die Gefäßwand gedrängt werden, wo sie haften bleiben oder in das Gewebe abwandern (32).

Das allmähliche Ansteigen der Leukozytenzahl nach Abschluß der Endotoxininfusion, ist auf einen gesteigerten Auswurf unreifer Zellen aus dem Knochenmark und auf eine reaktiv gesteigerte Granulozytopoese zurückzuführen, wie diese auch im Zusammenhang mit Infektionen zu beobachten ist (15).

Die Thrombozyten reagierten ähnlich auf das Endotoxin wie die Leukozyten. Bereits nach 15 Minuten wurde eine deutliche Plättchenvermin-

derung beobachtet, die allerdings nicht so drastisch verlief und länger andauerte als die Leukopenie. Der Minimalwert war nach 32 Stunden erreicht. Erst die 64 Stunden-Gruppe zeigte einen allmählichen Wiederanstieg der Thrombozytenzahl. Shiamoto und Mitarbeiter (1958) beobachteten bereits 15 - 30 Sekunden nach Endotoxingabe eine Plättchenverminderung bei gleichzeitiger Erhöhung des Plasmaserotonins (33). Thrombozyten nehmen ebenfalls Endotoxin auf, möglicherweise in höherem Maße als Leukozyten (17). Die Folge ist eine Plättchenaggregation mit Freisetzung biogener Amine und des Plättchenfaktor III (13).

Die These, daß der Plättchenfaktor III die DIG auslöst und den Thrombozyten somit die alleinige Starterrolle in der endotoxininduzierten Aktivierung des Gerinnungssystems zufällt, hat heute keine Gültigkeit mehr. Müller-Berghaus und McKay (1967) fanden nach Transfusionen mit reinem Plättchenfaktor III weder bei Ratten noch bei Affen eine intravasale Gerinnung (27).

Die Verminderung der Plättchenzahl ist einmal auf ihre Zerstörung durch direkten Toxinkontakt, zum anderen auf den Verbrauch infolge Mikrothrombenbildung zurückzuführen (22). Für ersteres spricht, daß eine endotoxininduzierte Thrombozytopenie auch durch Hemmung der Gerinnungsvorgänge nach hohen Gaben von Heparin nicht verhindert werden kann (12). Schöndorf et al (1971) sahen eine Abhängigkeit des Ausmaßes der Thrombozytopenie von der Endotoxindosis, die Verminderung der Thrombozyten bestand aber unabhängig davon, ob Mikrothromben gefunden wurden oder nicht (31, 4).

Auch das rote Blutbild zeigte schwerste Veränderungen nach Endotoxingabe. Der niedrigste Erythrozyten- und Haemoglobinwert wurde vier Stunden nach Versuchsbeginn beobachtet. Gleichzeitig wurde ein extremer Anstieg des Plasmahaemoglobinspiegels gemessen.

Bis zum Versuchsende hatte das Plasmahaemoglobin den Normwert der Kontrolltiere wieder erreicht, während Erythrozyten und das Haemoglobin zwar angestiegen aber im anämischen Bereich geblieben waren.

Die endotoxininduzierte DIG hat offensichtlich eine Zerreißung der im Netzwerk der Fibrinfäden hängenbleibenden Erythrozyten zur Folge (8,9). Im roten Zellausstrich werden Erythrozytenfragmente (Helmetzellen) nachweisbar. Das Haemoglobin wird frei und als Plasmahaemoglobin meßbar. Eine intravasale Haemolyse setzt unabhängig von der Ursache für die Mikrothrombosierung ein, zum Beispiel auch nach Thrombininfusionen (8). Beim Endotoxinschock hat die Zerstörung der Erythrozyten eine Verstärkung der DIG zur Folge, da bei der mechanischen Haemolysierung Gewebsthromboplastin frei wird. Quick (1954) stellte bei invitro erzeugten Haemolysaten eine ähnlich gerinnungsfördernde Aktivität wie beim Plättchenfaktor III fest (29).

Der von Beller und Theiss erarbeitete Zusammenhang zwischen der Höhe des Plasmahaemoglobinspiegels und dem Ausmaß der Fibrinisierung der Mikrothromben, der prozentual am Fibrinbefall der Nierenglomerula gemessen wurde (5, 35),

wurde mit den vorliegenden Ergebnissen einmal mehr bestätigt. Nach einer Versuchsdauer von vier Stunden erreichte der Plasmahaemoglobinspiegel seinen höchsten Wert, gleichzeitig waren 90 % der Nierenglomerula mikrothrombosiert und der Fibrinogenspiegel erreichte einen Minimalwert.

Mit Abnahme der Mikrothrombosierung im weiteren Versuchsverlauf wurde entsprechend eine Normalisierung des roten Blutbildes und des Plasmahaemoglobinspiegels beobachtet.

Der Hämatokrit (HKT) lag während der ersten zwei Stunden nur unwesentlich über den Normalwerten der Kontrolltiere. Er stieg bis zu 32 Stunden an und näherte sich dann dem Wert der Kontrolltiere.

Bei der relativ großen Menge der infundierten Flüssigkeit, dem signifikanten Abfall der zellulären Blutbestandteile und den Kompensationsmechanismen in der Frühphase des Schocks (15), wie Entleerung venöser Blutdepots und Einstrom von Gewebsflüssigkeit in die Gefäße, wäre eigentlich ein Absinken des Hämatokrits im Sinne einer Blutverdünnung zu erwarten gewesen.

Der signifikante Anstieg des HKT nach vier Stunden war überraschend und nur schwer zu interpretieren. Möglicherweise erhärtet dieser Befund einmal mehr die These der Fragmentation der Erythrozyten im Fibrin-Netzwerk (8,9): die Erythrozytenbruchstücke wurden zwar nicht im Coulter Counter gezählt, waren aber so groß, daß sie in der HKT Zentrifuge als Zellstücke das Plasmazellvolumen noch wirksam vergrößerten. Die signifikante HKT-erhöhung nach vier und acht Stunden bedeutet eine erhebliche Zunahme

der Viskosität des Blutes mit Stromungsverlangsamung bis zur Stase, die zusammen mit den oben beschriebenen Mechanismen dem aktivierten Gerinnungssystem den Weg zur Thrombenbildung in der Mikrozirkulation bereitet.

Die gegen Versuchsende beobachtete Abnahme des Hämatokrit korreliert mit den gemessenen Hämoglobin- und Erythrozytenkonzentrationen und wies eine Stabilisierung des roten Blutbildes in dieser Versuchsphase aus.

Die endotoxininduzierten Veränderungen im Gerinnungssystem wurden durch die Messung des Plasmafibrinogenspiegels objektiviert. Es zeigte sich anfänglich eine kontinuierliche Fibrinogenverminderung. Nach vier Stunden war bei drei Tieren kein Fibrinogen mehr meßbar. In den folgenden Stunden stieg der Plasmafibrinogenspiegel wieder an und erreichte nach 32 Stunden einen signifikant über dem Normalwert liegenden Gipfel. Verantwortlich für die Aktivierung des Gerinnungssystems durch Endotoxine ist die Freisetzung gerinnungsaktivierender Substanzen aus dem geschädigten Gefäßendothel und aus den zerstörten Thrombozyten, Leukozyten und Erythrozyten. Störungen der Hämodynamik durch Viskositäts-erhöhung des Blutes, Strömungsverlangsamung und Vasokonstriktion der prae- und postkapillaren Sphinkteren begünstigen die intravasale Thrombenbildung. Sowohl durch die Endothelläsion (Freisetzung von Plasminogen Aktivator) als auch durch Aktivierung des Hagemann Faktors wird gleichzeitig das Fibrinolysesystem aktiviert (Müller- Berghaus 1975). Neben dem Verbrauch von Gerinnungsfaktoren läßt sich eine Abnahme der fibrinolytischen Enzykapazität registrieren (10, 16).

Je nach Dauer und Stärke der Endotoxineinwirkung kommt es zur morphologischen Fixierung der intravasculär entstandenen Gerinnungsprodukte, die nun ihrerseits die Gewebssperfusion weiter verschlechtern und schließlich zu Anoxie und Organnekrose führen.

Der Wiederanstieg des Fibrinogenspiegels nach acht Stunden war ebenfalls zu erwarten. Nach einem endotoxininduzierten Verbrauch kommt es regelmäßig zu einer deutlichen Zunahme des Fibrinogenspiegels, die wie bei den vorliegenden Versuchen die Ausgangskonzentration weit übertreffen kann (26, 21).

Der rasche Fibrinogeneinstrom entstammt offensichtlich einer denovo-Synthese. Kay und McFarlane fanden mit Hilfe von C-14 Karbonaten vierzehn Stunden nach Endotoxingabe die Fibrinogensyntheserate um 400 % erhöht (20). Nach Lerner kann der Fibrinogeninflux soweit gehen, daß die eigentliche Verbrauchsreaktion maskiert wird (21).

Dieses im Tierversuch nachgewiesene Phänomen wird auch bei der septischen Verbrauchskoagulopathie beim Menschen beobachtet. Trotz massiver Thrombozytopenie, und bei tödlich verlaufenden Fällen mit autopsisch gesicherten Nierenrinden- und Hypophysennekrosen, wurden normale- oder erhöhte Fibrinogenspiegel gemessen (22).

Fibrinbefallene Glomerula waren bei den Tieren der ersten vier Gruppen, die spätestens nach zwei Stunden getötet wurden, nicht nachweisbar. Beller und Mitarbeiter beobachteten beim Kaninchen frühestens nach sechs Stunden (6), bei der Ratte nach drei Stunden (31), Fibrinniederschläge. Bis zu diesem Zeitpunkt werden die zwischen-

und Endprodukte der Blutgerinnung durch das noch intakte retikuloendotheliale System aus der Zirkulation entfernt und bereits entstandene Mikrothromben durch Fibrinolyse abgebaut.

Bei dem von uns angewandten Schockmodell scheint auch dem Kochsalz eine gewisse Trigger-Funktion zuzukommen. Theiss und Beller ermittelten einen proportionalen Zusammenhang zwischen infundierter $\text{Cl}=\text{NaCl}$ -Menge und dem Ausmaß der Fibrinniederschläge.

Obwohl nach zweistündiger Versuchszeit noch keine Mikrothrombosierung nachweisbar war, lag nach Thrombozytenzahl und Fibrinogenspiegel bereits eine Verbrauchsreaktion vor. Nach vierstündiger Versuchszeit waren im Mittel 90 % der Nierenglomerula thrombosiert. Bei zwei von zwölf Tieren waren es 98 %.

Lee sieht die Hauptursache für die Thrombenbildung in der durch Endotoxine beeinträchtigten Funktion des RES, da bei experimenteller Blockierung dieses Systems durch Thorotrast eine massive Zunahme der Mikro-Thrombosierung beobachtet wurde (23).

In den vorliegenden Versuchen nahm der Fibrinbefall der Glomerula wieder kontinuierlich ab. Nach acht Stunden waren noch 75 % nach zwölf Stunden noch 36 % der Nierenkapillaren thrombosiert. Nur fünf von zwölf Versuchstieren überlebten 64 Stunden. Bei ihnen waren weniger als 1 % der Glomerula befallen. Die übrigen sieben Tiere dieser Gruppe wiesen je nach dem Todeszeitpunkt einen unterschiedlich hohen Fibrinbefall auf (Tabelle Nr. 8).

Zu diesem Verlauf trägt einmal die gesteigerte Fibrinolyse bei (26), zum anderen wird diskutiert, daß die Fibrinabbauprodukte bereits vorhandene Gerinnsel durch Anlagerung auflösen (19). Gleichzeitig wird die Entstehung neuer

Thromben durch die fibrin degradation products die eine heparinähnliche Wirkung haben sollen (28) und die Umwandlung des Fibrinogens zu Fibrinstören, verhindert.

Eine indirekte Aussage über die pathophysiologischen Vorgänge ergaben die Körpergewichtsdifferenzen durch Wiegen der Tiere vor Versuchsbeginn und nach Beendigung des Versuchs. In den ersten vier Stunden nahmen die Tiere kontinuierlich an Gewicht zu und erreichten zu diesem Zeitpunkt das Maximalgewicht.

Die Gewichtszunahme resultierte aus der Flüssigkeitsretention bei Oligo- bzw. Anurie der Versuchstiere, verursacht durch Vasokonstriktion der vasa afferentia der Niere und Verlegung der Glomerula durch Mikrothromben. Zu diesem Zeitpunkt hatten die Tiere einen äußerlich sichtbaren Aszites. Nach zwölf Stunden wurde eine extreme Polyurie beobachtet.

Im weiteren Verlauf nahmen die Tiere trotz ständigen Angebots weder flüssige noch feste Nahrung zu sich, was sich in der fortlaufenden Gewichtsabnahme ausdrückte.

Bei Versuchsende waren die überlebenden Tiere kachektisch, die Organe wiesen autoptisch Zeichen einer Exsiccose auf.

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse ließen sich im zeitlichen Ablauf des Endotoxin-induzierten Schocks bei der Ratte drei Phasen unterscheiden. In der Frühphase wurden drastische Veränderungen in der Zusammensetzung der zellulären Blutbestandteile beobachtet. Nach vier Stunden wiesen die Tiere die stärkste Schocksymptomatik mit einer ausgeprägten Verbrauchskoagulopathie auf. Die folgenden Versuchsstunden waren durch eine zunehmende Auflösung der intravasalen Fibrinniederschläge bei den überlebenden Tieren charakte-

risiert. Trotz der Verbesserung der Laborparameter verschlechterte sich der klinische Zustand der Tiere kontinuierlich; nur fünf von zwölf Versuchstieren überlebten die 64 Versuchsstunden.

V. Zusammenfassung

Weibliche Ratten erhielten eine Injektion von 1 mg Endotoxin und eine Infusion von 0,9 % NaCl-Lösung über einen Zeitraum von vier Stunden. Der zeitliche Ablauf des Endotoxin-induzierten Schocks wurde über 64 Stunden untersucht. Jeweils achtzehn Ratten (zwölf Endotoxintiere und sechs Kontrolltiere) bildeten eine von neun Versuchsgruppen. Den Tieren jeder Gruppe wurde zu einem festgelegten Zeitpunkt Blut entnommen, die Tiere wurden getötet und autopsiert. Die Tiere der ersten Gruppe wurden eine Viertelstunde nach Endotoxingabe, die letzten nach 64 Stunden untersucht.

Bereits nach einer Viertelstunde wurde eine ausgeprägte Leuko- und Thrombozytopenie beobachtet. Nach vier Stunden wurden die stärksten Veränderungen registriert. Die Leukozytenzahl lag unter 20 % des Normalwerts. Alle Tiere wiesen eine ausgeprägte Anämie auf; die Erythrozytenzahl und das Haemoglobin erreichten mit 3,1 Millionen Erythrozyten/mm³ und 6,3 g % Haemoglobin einen Minimalwert. Als Zeichen einer massiven Verbrauchsreaktion wurde ein prozentualer Befall der Nierenglomerula mit Fibrinthromben von über 90 % beobachtet. Der Fibrinogenspiegel hatte mit 1,5 % den tiefsten Wert erreicht, bei drei Tieren trat eine Afibrinogenämie auf. Der Plasmahaemoglobinspiegel war als Ausdruck einer Fibrin-induzierten Haemolyse auf den Maximalwert von 166 mg % (Kontrolle 17 mg %) gestiegen. Die Körpergewichtszunahme war mit durchschnittlich 20 g am höchsten.

Im weiteren Verlauf naherten sich alle untersuchten Parameter den Meßwerten der Kontrolltiere. Lediglich die Zahl der Thrombozyten blieb bis zum Versuchsende über 50 % vermindert. Der Fibrinogenspiegel war im Sinne einer Hyperfibrinogenämie auf maximal 223 mg % (Kontrolle 170 mg %) angestiegen.

Trotz der Verbesserung der Laborparameter verschlechterte sich der klinische Zustand der Tiere kontinuierlich; nur fünf von zwölf Versuchstieren überlebten die 64 Versuchsstunden.

V. Literatur

1. Apitz, K.: A study on the generalized Shwartzman phenomen. I. Immunol. Baltimore 29, 259 (1935)
2. Beller, F. K.: Experimental animal models for the production of disseminated intravascular coagulation. In: Bang, N. U., Beller, F. K., Deutsch E., Mammon, E. F.: Thrombosis and Bleeding Disorders (Theory and Method) Academic press: New York and London, 1970
3. Beller, F. K., Graeff, H.: Disposition of glomerulafibrin in the rabbit after infusion with endotoxin. Nature 215, 295 (1967)
4. Beller, F. K., Douglas, G. W.: Thrombozytopenia indicating gramnegative infection and endotoxemia. Obstet. Gynecol. 115, 822 (1973)
5. Beller, F. K., Theiss, W.: Fibrinderivates, plasmahaemoglobin and glomerular fibrindeposition in experimental intravascular coagulation. Thromb. Haemostas. 29, 363 (1973)
6. Beller, F. K., Graeff, H., Gorstein, F.: Disseminated intravascular coagulation during continous infusion of endotoxin in rabbits: morphological and physiological studies. Amer. J. Obstet. Gynecol. 103, 544 (1969)

7. Betke, K., Savelsberg, W.: Stufenphotometrische Haemoglobinbestimmung mittels Cyanohaemoglobin. *Biochem. Zeitschrift* 320, 431 (1950)
8. Brain, M. C., Esterly, J. R., Beck, E. A.: Intravascular haemolysis with experimentally produced vascular thromb. *Brit. J. Haemat.* 13, 868 (1967)
9. Brain, M. C., O' B Hourihanc, D.: Mirkroangiopathic haemolytic anaemia: The occurance of Haemolysis in experimentally produced vascular desease. *Brit. Haemat.* 13, 135 (1967)
10. Ostermann, C. N., The fibrinolytic system and haemostasis. *Thromb. Haemostas.* 34, 368 (1975)
11. Clauss, A.: Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogens. *Acta Haemat.* 17, 237 (1957)
12. Corrigan, J. J.: Effect of anticoagulation and non anticoagulation of heparin on the generalized Shwartzman reaction. *Thrombos. Diathes. haemorrh.* (Stuttgart) 24, 136 (1970)
13. Des Prez, R. M., Marhey, S. R. jr.: Immunological reactions involving platelets. In: Johnson, S. A. (Ed.): *The circulatin platlet.* Academic Press, New York - London 1971
14. Forman, E. N., Abildgaard, C. F., Bolger, J. F., Johnson, C. A., Schulman, I.: Generalized Shwartzman Reaction: Role of the granulozyte in intravascular coagulation and renal cortical necrosis. *Brit. J. Haemat.*

15. Gedick, P.: Störungen der Zirkulation. Lehrbuch der allgemeinen Pathologie und pathologischen Anatomie. Springer Verlag: Berlin, Heidelberg, New York (1975)
16. Heimbürger, N., Trobisch, H.: Blutgerinnung und Fibrinolyse. Angew. Chem. 83, 89 (1971)
17. Horion, J. C., Herring, W. B., Palmer, J. G. Walter, R. J.: Cr ⁵¹ labeled endotoxin distribution in granulocytopenic animals. Am. J. Physiol. 206, 947 (1964)
18. Horn, R. G.: Evidence for participation of granulocytes in the pathogenesis of the generalized Schwartzman reaction: a review. J. Infect. Dis. 128 Suppl. 134 (1973)
19. Kowalski, E., Bedzynski, A. Z., Kopec, M., Latallo, Z. S., Lopinsky, B.: Circulating fibrinogendegradation products (FDP) in dog-blood after intravenous thrombin-infusion. Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 13, 12 (1965)
20. Koy, A., Mc Farlane, A. S.: Effect of endotoxin on plasmaalbumin and fibrinogen synthesis rates in rabbits as measured by the C14 carbonate method. Biochem. J. 108, 137 (1968)
21. Lerner, R., Rapaport, S. J., Siemsen, J. K., Spitzer, J. M.: Disappearance of fibrinogen - 131 J after endotoxin: Effects of a first and second injection. Am. J. Physiol. 214, 532 (1968a)

22. Lasch, H. G., Huth, K., Heene, D. L., Müller-Berghaus, G., Horder, M. H., Janzarik, H., Mittermayer, C., Sandritter, W.: Klinik der Verbrauchs-koagulopathie. Dtsch. med. W'schrift. 96, 716 (1971)
23. Lee, L.: Reticuloendothelial clearance of circulating fibrin in the pathogenesis of the generalized Schwartzman reaction. J. exp. Med. 115, 1065 (1962)
24. McKay, D. G.: A partial synthesis of the generalized Schwartzman reaction. Fed. proc. 22, 1373 - 1379 (1963)
25. Müller-Berghaus, G.: Pathophysiology of disseminated intravascular coagulation. In: Mammon, E. F., Anderson, G. F., Bernhard, M. (eds.): Disseminated intravascular coagulation. Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) Suppl. 36, 45 (1969)
26. Müller-Berghaus, G., Eckardt, T.: The role of granulocytes in the activation of intravascular coagulation and the precipitation of soluble fibrin by Endotoxin. Blood 45, 631 (1975)
27. Müller-Berghaus, G., Goldfinger, D., Margareten, W., McKay, D. G.: Platelets factor III and the generalized Schwartzman reaction. Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 18, 726 (1967b)
28. Niewiarowski, S., Stewart, G. J., Marder, V. J.: Formation of highly ordered

polymers from fibrinogen and fibrin degradation products. Biochem. biophys. Acta (Amst.) 221, 326 (1970)

29. Quick, A. J., Georgatsos, I. G., Hussey, C. V.: The Clotting activity of human erythrocytes: Theoretical and clinical Implications. Amer. J. med. Sci. 228, 207 (1954)
30. Schmidt, E. H., Ribhegge, I., Beller, F. K.: Verstärkung der durch endotoxin induzierten intravasculären Gerinnung durch experimentelle Tumoren. In: Deutsch, E., Graeff, H., Harms, D., Ludwig, H., Lüscher, E. F., Marx, R.: Onkohaemostasiologie, F. K. Schattauer Verlag Stuttgart - New York, 1976
31. Schoendorf, T. H., Rosenberg, M., Beller, F. K.: Endotoxin induced Disseminated Intravascular Coagulation in nonpregnant rats. A new experimental model. Depart of Obstetrics and Gynecology, New York (1971)
32. Schramm, F., Westphal, O., Lücknitz, O.: Über bakterielle Reizstoffe III Mitt.: Physikalisch-chemisches Verhalten eines hochgereinigten Coli-Pyrogens. Ztschrft. Naturforscher. 7, 594 (1952)
33. Shiamoto, T., Yamazak, H., Ohno, K.: The effect of bacterial endotoxins on platlets and release of Serotonin. I. Bacterial endotoxin on the number of circulating platlets. Proc. Japan. Acad. 34, 444 (1958)

34. Theiss, W., Beller, F. K.: Exchange transfusions experiments in rats inducing intravascular coagulation. *Gynec. Obstet.* 135, 713 (1972)
35. Theiss, W., Beller, F. K.: The effect of saline loading on endotoxin induced disseminated intravascular coagulation. *J. Lab. Clin. Med.* 81, 431 (1973)
36. Thomas, L., Good, R. A.: The effect of cortisone on the Schwartzman reaction. The Production of lesions resembling the dermal and generalized reactions by a single injection of bacterial toxin in cortison-treated rabbits. *J. exp. Med.* 95, 405 (1952)
37. Thomas, L., Good, R. A.: Studies on the generalized Schwartzman reaction. I General Observations concerning the phenomen. *J. esp. Med.* 96, 605 (1952)
38. Westphal, O., Novotny, A., Lüderitz, O., Hurni, H., Eichengerger, E., Schöholz, G.: Die Bedeutung der Lipidkomponente (Lipoid A) für die biologischen Wirkungen bakterieller Endotoxine (Lipopolysaccharide). *Pharm. Acta. Helv.* 33, 401 (1958)

Lebenslauf

Am 11. September 1947 wurde ich als Sohn des Diplom-Kaufmanns Hans-Joachim Bührig und seiner Ehefrau Edith, geborene Trull, in Goslar geboren. Ich habe noch eine ältere Schwester, gehöre der evangelisch-lutherischen Kirche an und besitze die deutsche Staatsangehörigkeit.

Nach vierjähriger Volksschul- und neunjähriger Gymnasialzeit bestand ich 1966 das Abitur am Werner von Siemens Gymnasium Bad Harzburg. Es folgte eine zweijährige Bundeswehrzeit, die ich 1968 als Leutnant der Reserve abschloß.

Von 1969 bis 1971 studierte ich an der Georg-August Universität in Göttingen Biologie. Zum Sommersemester 1971 nahm ich das Medizinstudium an der Westfälischen-Wilhelms Universität in Münster auf. Hier legte ich am 3. April 1972 die naturwissenschaftliche Vorprüfung ab; am 3. April 1974 bestand auch die ärztliche Vorprüfung, und nach sechs klinischen Semestern schloß ich das Medizinstudium am 24.6.1977 mit der ärztlichen Prüfung ab. Die Medizinalassistentenzeit leistete ich bis zum Oktober 1978 im Marienhospital Borghorst ab. Am 21.11.1978 erhielt ich die Approbation zum Arzt. Seit dem 1. Januar 1979 bin ich als Assistenzarzt der Abteilung für Innere Medizin am Steinfurter Krankenhaus tätig. 1980 heiratete ich die Erzieherin Zita Pott aus Nieheim/Höxter. 1981 wurde unser Sohn Tobis geboren.

Tabelle Nr. 1 Leukozyten $\times 1000/\text{mm}^3$ [illegible]

Tabelle Nr. 4 Thrombozyten $\times 1000/\text{mm}^3$

Anteil an	1/4	1/2	1	2	4	1/2	8	16	32	64
frei N.	1	635	735	195	550	75	90	80	55	230
(Einko-	2	840	645	730	565	60	210	81	120	"
toxin)	3	821	710	870	620	65	320	170	70	250
	4	625	580	830	725	270	235	140	90	290
	5	640	715	820	600	230	365	150	50	"
	6	600	670	780	570	385	230	70	40	"
	7	590	525	870	655	300	325	60	75	"
	8	780	600	760	525	325	110	40	†	"
	9	665	620	945	665	260	315	150	80	240
	10	935	565	830	630	260	475	60	100	"
	11	835	585	885	810	410	190	75	30	"
	12	630	550	730	-	325	195	40	45	100

x_1	716	625	820	628	247	255	93	69	222
$\frac{1}{x_1}$	118	70	65	83	120	110	46	28	72

(Kontrolle)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1000	1160	890	1250	1215	1160	1385	785	960	
1620	1065	1010	1100	990	1195	1245	755	1065	
1195	1110	980	1035	1210	1055	925	885	1075	
935	0980	835	1030	995	1190	965	865	1110	
880	1060	1090	1185	1110	1160	985	885	955	
990	1210	1045	830	1045	995	1120	-	1060	

M_{W_2}	1103	1098	975	1012	1071	1126	1104	835	1038
ΔW_2	275	81	96	146	161	82	182	61	64

1110 cm⁻¹, weak =

© 2002 Blackwell Science Ltd

0,05 0,05 0,05 0,05 0,05 0,05 0,05 0,05 0,05

Tabelle Nr. 3 Erythrozyten x Mio./mm³

Stunden	1/4	1/2	1	2	4	1/2	8	16	32	64
Tier Nr. 1	6,3	7,2	6,0	7,2	2,6	4,4	4,9	5,1	4,5	
(Endo- 2	6,4	6,9	5,5	6,3	2,3	4,9	4,1	5,7	+	
toxin) 3	6,8	7,2	6,0	7,5	2,2	4,3	4,9	5,3	6,3	
4	8,3	7,3	6,1	6,4	3,5	5,0	5,3	6,3	4,5	
5	7,4	6,5	5,6	6,6	4,2	4,9	4,4	5,9	+	
6	7,9	6,8	5,7	6,5	3,0	5,2	3,1	5,7	+	
7	8,3	7,3	6,2	6,5	3,1	-	3,9	6,1	+	
8	7,7	7,4	6,0	6,1	3,3	4,2	4,1	+	+	
9	7,5	8,0	6,7	6,5	4,1	4,5	3,8	5,5	3,4	
10	7,4	7,3	6,5	7,5	2,9	5,3	5,0	5,7	+	
11	7,9	6,8	7,6	6,9	2,8	5,5	4,7	5,8	+	
12	8,0	7,1	6,1	-	3,2	4,2	4,2	4,9	1,7	
$\bar{x}_1$	7,4	7,2	6,2	6,7	3,1	4,8	4,4	5,6	4,1	
$\pm$ SD	0,6	0,4	0,6	0,5	0,6	0,5	0,6	0,4	1,7	
(Kontrolle)										
Tier Nr. 1	7,1	7,1	6,5	5,9	7,2	7,4	7,0	7,2	7,9	
2	7,6	7,0	7,2	6,2	6,6	6,6	7,0	7,5	7,1	
3	7,7	7,3	6,4	6,7	7,0	8,4	6,1	7,3	7,0	
4	7,6	6,9	6,5	6,5	6,3	6,6	5,8	7,8	5,8	
5	6,9	6,5	7,2	6,4	7,2	6,6	6,0	7,7	7,2	
6	7,8	7,2	8,0	7,1	6,7	7,1	6,2	-	6,4	
$\bar{x}_2$	7,5	7,0	6,8	6,5	6,8	7,1	6,4	7,5	6,9	
$\pm$ SD	0,4	0,3	0,4	0,4	0,4	0,7	0,5	0,3	0,7	
Irrtumswahr- scheinlichkeit										
$\alpha <$	-	-	0,05	-	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	

Tabelle Nr. 4 Hämoglobin in g %

Stunden	1/4	1/2	1	2	4 1/2	8	16	32	64	
Tier Nr. 1	13,5	14,0	11,8	12,1	6,3	8,0	8,1	11,0	9,0	
(Endo-	2	13,4	13,0	11,7	12,7	5,9	9,0	8,5	12,0	+
toxin)	3	12,7	13,0	12,2	13,7	5,9	9,0	8,5	12,2	12,0
	4	13,3	13,0	11,5	12,6	6,8	8,5	9,4	13,0	10,0
	5	12,9	12,0	12,3	12,3	6,5	9,4	8,3	13,0	+
	6	14,0	14,0	11,7	12,2	6,7	10,0	8,3	10,9	+
	7	13,0	14,0	12,2	12,4	5,6	10,0	8,0	11,0	+
	8	13,2	14,0	12,5	12,5	5,4	8,5	9,1	+	+
	9	14,0	14,0	12,9	12,8	7,3	9,0	9,2	11,0	9,0
	10	13,1	13,0	12,7	13,6	6,1	9,5	9,0	12,0	+
	11	13,1	13,1	13,0	13,1	6,7	10,1	8,5	10,9	+
	12	14,9	13,0	11,9	-	6,4	-	8,4	11,2	5,0
$\bar{x}_1$	13,4	13,3	12,0	12,7	6,3	9,2	8,6	11,7	9,0	
$\pm$ SD	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5	0,7	0,5	0,8	2,5	
(Kontrolle)										
Tier Nr. 1	14,2	13,9	13,0	12,1	14,6	14,0	14,0	14,0	15,0	
	2	13,2	13,1	13,7	12,8	12,9	14,0	14,0	14,0	14,0
	3	14,2	13,4	13,1	13,1	14,4	14,0	14,0	14,0	13,0
	4	14,2	14,3	11,9	12,9	12,5	14,0	13,0	15,0	13,0
	5	14,1	14,1	13,2	12,8	13,5	14,0	14,0	14,0	14,0
	6	14,4	14,1	13,3	13,1	13,1	15,0	14,0	-	14,0
$\bar{x}_2$	14,1	13,8	13,0	12,8	13,5	14,2	13,8	14,2	13,8	
$\pm$ SD	0,4	0,5	0,6	0,4	0,8	0,4	0,4	0,5	0,8	
Irrtumswahr- scheinlichkeit										
$\alpha <$	0,05	-	0,05	-	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05

Tabelle Nr. 5 Hämatokrit in Vol %

Stunden	1/4	1/2	1	2	4	1/2	8	16	32	64
Tier Nr. 1	-	42	35	35	41		39	49	40	30
(Endo-	2	40	45	33	33	43	45	43	38	+
toxin)	3	41	42	30	30	46	40	44	35	28
	4	37	33	30	32	43	45	48	38	35
	5	35	45	38	35	40	38	50	45	+
	6	37	45	35	-	38	40	51	40	+
	7	39	41	35	30	-	40	48	40	+
	8	35	39	35	30	-	38	49	+	+
	9	38	38	33	29	44	45	47	40	30
	10	39	40	37	30	45	-	52	35	+
	11	42	35	35	28	43	43	38	40	+
	12	40	38	34	25	37	47	48	44	14
x_1	39	40	34	31	43		42	47	40	27
$\pm$ SD	2	4	3	3	3		3	4	4	8
(Kontrolle)										
Tier Nr. 1	37	33	35	36	36		36	40	40	37
	2	40	33	39	35	38	36	42	38	34
	3	42	35	35	35	39	38	39	35	41
	4	33	36	38	39	35	38	40	38	37
	5	38	41	38	36	36	37	36	40	35
	6	42	40	35	38	40	34	37	-	40
x_2	39	36	37	36	37		37	39	38	38
$\pm$ SD	3	3	2	2	2		1	2	2	3
Irtumswahrscheinlichkeit										
$\alpha <$	-	0,05	0,05	0,05	0,05		0,05	0,05	-	0,05

Tabelle Nr. 6 Plasmahaemoglobin in mg%

Stunden	1/4	1/2	1	2	4 1/2	8	16	32	64
Tier Nr. 1	025	020	026	032	162	050	084	025	016
2	025	030	021	032	322	034	095	030	†
3	027	030	021	034	325	035	123	032	027
4	032	020	025	031	097	082	089	038	025
5	029	030	027	041	090	052	068	022	†
6	025	020	026	039	069	039	100	013	†
7	058	037	023	037	147	039	093	†	†
8	032	036	023	036	274	064	042	020	†
9	037	040	053	029	083	067	095	069	016
10	033	026	032	030	110	038	052	015	†
11	030	050	027	036	134	029	091	027	†
12	023	030	030	-	187	052	100	025	022
$\bar{x}_1$	31,3	30,8	25,8	34,3	166,7	48,4	86,0	28,7	21,2
$\pm$ SD	9,4	9,0	11,4	3,9	91,9	15,9	22,2	15,2	5,1
(Kontrolle)									
Tier Nr. 1	026	010	020	025	023	023	010	020	023
2	021	021	027	020	017	010	014	014	027
3	030	016	019	015	020	020	023	022	024
4	034	021	028	020	012	010	021	020	019
5	029	025	027	014	012	020	023	022	028
6	026	020	027	013	021	101	015	-	027
$\bar{x}_2$	27,7	18,8	24,7	17,9	17,5	13,3	17,7	19,6	24,7
$\pm$ SD	4,4	5,2	4,0	4,6	4,7	5,2	5,4	3,3	3,4
$\alpha <$	-	-	-	0,05	0,05	0,05	0,05	-	-

Tabelle Nr. 7 Fibrinogen in mg%

Stunden	1/4	1/2	1	2	4 1/2	8	16	32	64
Tier Nr. 1	232	159	131	114	000	111	090	203	188
2	232	136	164	110	000	129	300	232	†
3	188	136	161	114	000	135	243	232	171
4	167	137	151	124	030	062	195	267	203
5	157	141	139	087	042	076	212	255	†
6	134	149	136	093	078	129	181	232	†
7	106	143	127	102	000	146	161	218	†
8	113	146	139	096	045	086	206	†	188
9	133	149	147	106	052	062	196	206	†
10	114	159	127	106	041	142	155	216	†
11	115	132	139	105	064	160	197	197	203
12	121	132	136	099	054	092	185	197	†
$\bar{x}_1$	149	143	141	105	34	11	193	223	190
$\pm$ SD	46	9	12	10	28	34	50	23	13
(Kontrolle)									
Tier Nr. 1	161	171	156	277	232	171	188	188	171
2	156	162	161	197	232	182	216	188	161
3	156	198	163	157	196	176	189	174	203
4	161	165	156	190	255	176	148	151	176
5	155	188	206	206	199	166	197	188	188
6	169	197	143	197	218	186	206	194	188
$\bar{x}_2$	160	180	164	204	222	176	191	178	181
$\pm$ SD	5	16	22	40	22	7	23	16	15
Irrtumswahrscheinlichkeit									
$\alpha <$	-	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	-	0,05	-

Tabelle Nr. 8 Fibrinbefallene Glomerula in %

Stunden	1/4	1/2	1	2	4 1/2	8	16	32	64
Tier Nr. 1	0	0	0	0	96	82	34	5	1
2	0	0	0	0	95	76	46	3	7†
3	0	0	0	0	96	74	30	0	0
4	0	0	0	0	90	89	39	2	0
5	0	0	0	0	91	72	32	4	19†
6	0	0	0	0	85	68	44	0	9†
7	0	0	0	0	98	75	40	9	9†
8	0	0	0	0	82	75	40	87†	72†
9	0	0	0	0	95	82	33	10	0
10	0	0	0	0	87	69	36	9	35†
11	0	0	0	0	85	62	30	5	25†
12	0	0	0	0	80	66	29	2	1
$\bar{x}_1$	-	-	-	-	90	74	36	4,5	0,4*
$\pm$ SD	-	-	-	-	6,3	7,6	5,7	3,6	0,6*
(Kontrolle)									
Tier Nr. 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
$\bar{x}_2$	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\pm$ SD	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Irtumswahr- scheinlichkeit									
$\alpha <$	-	-	-	-	0,05	0,05	0,05	0,05	-

Tabelle Nr. 9 Gewichts-differenz vor und nach dem Versuch in g

Stunden	1/4	1/2	1	2	4 1/2	8	16	32	64
Tier Nr.1	3	5	13	15	23	-13	4	-20	-10
2	3	10	9	15	20	-15	-1	-30	†
3	2	5	10	10	27	-10	-8	-15	-6
4	1	7	7	20	12	+7	-15	-20	+5
5	0	10	10	20	12	-11	0	-30	†
6	1	5	5	10	8	-15	-8	-20	†
7	0	5	15	20	30	-25	-10	-15	†
8	2	15	10	15	10	-10	-10	-	†
9	0	5	7	15	14	-10	-12	-30	†
10	1	5	7	15	14	-10	-12	-20	†
11	-1	5	10	10	20	-15	-10	-20	†
12	-2	5	7	-	13	-10	-10	-25	-30

$\bar{x}_1$	0,8	6,8	9,3	14,5	19,5	10,1	-7,5	-22	14,2
$\pm$ SD	1,5	3,2	2,7	4,1	6,3	8,6	5,5	5,6	15,4

(Kontrolle)

Tier Nr.1	0	0	8	4	-5	-1	+8	+5	+10
2	0	3	5	2	5	-9	+5	+10	+5
3	-1	4	5	10	10	-15	+5	+20	+5
4	-2	2	5	0	6	+2	0	+15	+13
5	0	1	5	0	-7	-3	+5	+15	+10
6	2	0	5	0	2	-5	0	+5	+8

$\bar{x}_2$	-0,2	1,7	5,5	2,6	1,8	-5,1	3,9	10,00	8,5
$\pm$ SD	1,3	1,6	1,2	3,9	6,6	6,0	3,2	8,9	3,1

Irrtums-
wahrscheinlichkeit

$\alpha <$	-	0,005	0,05	0,05	0,05	-	0,05	0,05	0,05
------------	---	-------	------	------	------	---	------	------	------

